

MAST ISOPLEX® CRE-ART
Frequently Asked Questions

Welche Familienmitglieder können für die jeweilige Target-Gruppe detektiert werden?

Mit **MAST ISOPLEX® CRE-ART** werden die in der Tabelle aufgeführten Familienmitglieder detektiert:

Targets	
Familie	Familienmitglieder
OXA-48	48, 162, 163, 181, 199, 204, 232, 244, 245, 247, 252, 370, 405, 416, 438, 439, 484, 505, 514, 515, 517, 519, 538, 546, 547, 566, 567, 731, 788, 793, 833
OXA-23	23, 27, 49, 73, 103, 133, 146, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 225, 239, 366, 398, 422, 423, 435, 440, 482, 483, 565, 657, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818
OXA-24/40	24, 25, 26, 40, 72, 139, 160, 207, 437, 653
KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46
VIM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68
NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28
IMP	1, 3, 4, 6, 10, 25, 26, 30, 34, 38, 40, 42, 52, 55, 61, 60

Warum wird dem Test eine DNA als Inhibitions-Kontrolle (ICDNA) zugefügt?

Eine ICDNA wird zugefügt, um sicher zu stellen, dass die Probe während der Testdurchführung weder inhibiert noch abgebaut wurde. Ein negatives Ergebnis für die Inhibitions-Kontrolle (Reaktionsgefäß 8) deutet darauf hin, dass DNA-Abbau, eine Inhibition der DNA erfolgte oder der Probe keine ICDNA versetzt wurde.

Was passiert, wenn zu viel Volumen des Proben- / Reaktionsgemisches zum MAST ISOPLEX® CRE-ART Pellet gegeben wird?

Es wird empfohlen, die Gebrauchsanweisung zu beachten. Falls versehentlich ein falsches Volumen zugefügt wird, kann dies eine langsamere / abgeschwächte Amplifikation bedingen, was zu falsch-negativen Ergebnissen führen kann.

Was passiert, wenn ein Pellet nicht korrekt resuspendiert wird?

Es wird empfohlen, das Pellet während der Konstitution durch vorsichtiges Auf- und Abpipettieren zu mischen (siehe Gebrauchsanweisung). Die Pellets wurden so produziert, dass sie leicht zu resuspendieren sind und es somit unwahrscheinlich ist, dass die Pellets nicht vollständig resuspendiert werden. Sollte Letzteres doch eintreten, ist das Pellet erneut durch Auf- und Abpipettieren zu mischen.

Soll ein bestimmtes 1,5 mL Reaktionsgefäß verwendet werden?

Es kann jedes Reaktionsgefäß verwendet werden, vorausgesetzt, es ist mit einem Deckel versehen, für die Temperatur und jeweiligen Heizblock geeignet und kann das für die Testdurchführung erforderliche Volumen aufnehmen.

Was passiert, wenn zu viel Probenmaterial (Bakterienkultur) in der Reaktion verwendet wird?

Ein zu hohes Bakterienwachstum kann zu einem DNA-Überschuss führen, der einen hohen Hintergrund sowie ein falsch-negatives Ergebnis erzeugen kann. Dies kann durch eine verzögerte Amplifikation (erreichen des maximalen Geräte-Thresholds) erfolgen. In diesem Fall sollte der Test mit der richtigen Menge an eingesetzter DNA wiederholt werden.

Was passiert, wenn zu wenig Probenmaterial (Bakterienkultur) in der Reaktion verwendet wird?

Zu geringes Bakterienwachstum kann zu geringen DNA-Mengen führen, sodass die Anzahl der vorhandenen Target-Kopien unter der Nachweisgrenze liegt. So kann unter Umständen während der 30-minütigen Reaktionszeit keine Amplifikationskurve sichtbar sein. Weitere Informationen bitte der Gebrauchsanweisung entnehmen. Sofern möglich, sollte der Test mit der richtigen Menge an DNA wiederholt werden.

Welche Kulturmedien sind mit dem Test kompatibel und können verwendet werden?

MAST ISOPLEX[®] CRE-ART wurde mit folgenden Medien validiert: Columbia-Agar und Mueller-Hinton-Agar sowie den chromogenen Medien CHROMagar[™] mSuperCARBA[™], CHROMagar[™] KPC und CHROMagar[™] ESBL. Alle anderen Medien sollten vor der Verwendung in der Diagnostik intern validiert werden. Weitere Informationen bitte der Gebrauchsanweisung entnehmen.

Werden die Testreagenzien durch Agarrückstände inhibiert?

In-house-Tests haben gezeigt, dass Agarrückstände (z. B. durch Koloniepicken) die Amplifikation der ICDNA nicht inhibieren oder zu einer unspezifischen Amplifikation der No-Template-Kontrolle führen.

Was passiert, wenn die Probe zu lange im Heizblock verbleibt?

Mittels in-house-Tests wurde untersucht, ob die Länge der Inkubationszeit bei 95°C einen Effekt auf die DNA der Inhibitions-Kontrolle (ICDNA) hat. Es wurde kein signifikanter Unterschied des Ct-Werts bei der zwischen 5- und 30- minütiger Inkubation bei 95 °C festgestellt.

Auf welchen Thermocycler-Geräten kann der Test durchgeführt werden?

MAST ISOPLEX® *CRE-ART* ist mit jedem Real-Time Detektionsgerät kompatibel, das einen FAM-Kanal zur Detektion des Amplifikationssignals besitzt. Der Test wurde auf folgenden Geräten validiert: ABI 7500, ABI 7500 FAST, TS2 TubeScanner und **MAST** ISOPLEX® *MD12*. Alle anderen Thermocycler sollten vor der Verwendung in der Diagnostik intern validiert werden.

Wann ist ein Ergebnis ungültig?

Ein ungültiges Ergebnis liegt vor, wenn die Inhibitions-Kontrolle (Reaktionsgefäß 8) kein positives Ergebnis zeigt. Dies bedeutet, dass eine Inhibierung stattgefunden hat und die Ergebnisse somit beeinträchtigt wurden. Eine negative Template-Kontrolle mit einem positiven Ergebnis in Reaktionsgefäß 1-7 ist ebenso ungültig wie ein negatives Ergebnis für eine positive Kontrolle. In diesen Fällen muss der Test wiederholt werden. Es sollte sichergestellt werden, dass die ICDNA dem Testansatz zugefügt wird und alle Geräte / Verbrauchsmaterialien DNase-frei sind.

Warum erscheint eine Amplifikationskurve erst spät im Reaktionsverlauf?

Ein möglicher Grund ist die DNA-Konzentration. Eine zu geringe DNA-Konzentration führt zu einer verlängerten Zeit bis zur Amplifikation, sodass die Amplifikationskurve erst im späteren Reaktionsverlauf erscheint.

Was bedeutet es, wenn die Inhibitions-Kontrolle ein negatives Ergebnis liefert?

In diesem Fall wird die Probe wahrscheinlich inhibiert. Der Test sollte wiederholt werden.

Ein Ergebnis (Amplifikationskurve) ist bedeutend niedriger als die anderen positiven Ergebnisse, aber höher als die negativen – ist eine Bewertung als „positiv“ möglich?

Das Ergebnis kann als positiv betrachtet werden, sofern die ICDNA positiv ist und keine Probeninhibierung zeigt.

Kann die DNA der Inhibitions-Kontrolle (ICDNA) mehrfach verwendet werden?

Die ICDNA kann für bis zu 10 Proben wiederverwendet werden. Um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden, sollte die ICDNA in kleinere Volumina aliquotiert und bei -20 °C gelagert werden.

Kann bei der Testdurchführung eine Positivkontrolle verwendet werden?

Es kann eine in-house Positivkontrolle / ein ATCC-Stamm für das entsprechende Target mit dem **MAST** ISOPLEX® *CRE-ART* verwendet werden. Für Bestellinformationen von Positivkontrollen bitte Mast Diagnostica GmbH kontaktieren.

Wie sollte der Test gelagert werden?

Der Test soll bei 2 - 30 °C und geschützt vor direktem Sonnenlicht gelagert werden. Die resuspendierte DNA der Inhibitions-Kontrolle (ICDNA) soll bei Verwendung am selben Tag bei 2 - 8°C und zur Langzeitlagerung bei -20 °C gelagert werden. Rekonstituierte Strips des **MAST ISOPLEX[®] CRE-ART** Tests sind während des Testansetzens bei 2 - 8°C zu lagern.

Analytische Sensitivität der jeweiligen Targets?

Target Gen	Probit value Femtograms/μL (95% Konfidenz-Intervall)	Probit value DNA copy number/μL (95% Konfidenz-Intervall)
OXA-48	0,13fg/μL (0,07 - 0,75)	44 copies/ μL (22,5 - 244,2)
OXA-23	0,28fg/μL (0,15 - 1,19)	92 copies/ μL (49,7 - 386,7)
OXA-24/OXA-40	2,1fg/μL (1,05 - 2,02)	683 copies/ μL (344 - 6576)
KPC	0,1fg/μL (0,05 - 0,58)	35 copies/ μL (17,4 - 187,4)
VIM	0,1fg/μL (0,05 - 0,62)	35 copies/ μL (16,6 - 195,7)
NDM	0,2fg/μL (0,08 - 1,36)	53 copies/ μL (27,6 - 442,7)
IMP	2,7 g/μL (1,12 - 27,8)	879 copies/ μL (364,8 - 9035,3)

Für weitere Informationen die Gebrauchsanweisung beachten.

Wie wird sichergestellt, dass die Primer korrekt funktionieren?

Während der Herstellung des **MAST ISOPLEX[®] CRE-ART** werden durchweg strenge Qualitätskontrollen durchgeführt, um eine optimale Performance der Pellets sowie deren korrekte Lokalisation sicherzustellen und Kreuzkontamination zu verhindern. Sofern erforderlich, kann eine entsprechende Positivkontrolle für die interne Qualitätskontrolle verwendet werden.

Ist der Test qualitativ oder quantitativ?

MAST ISOPLEX[®] CRE-ART ist ein qualitativer Test.

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an:

Mast Diagnostica GmbH
Feldstraße 20
DE-23858 Reinfeld
Tel. +49 (0)4533 2007 0
Fax +49 (0)4533 2007 68
mast@mast-diagnostica.de / www.mast-group.com

